

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/JP2003/012734



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PH-1899-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP2003/012734	International filing date (day/month/year) 03 October 2003 (03.10.2003)	Priority date (day/month/year) 04 October 2002 (04.10.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/09, 1/15, 1/19, 1/21, 5/10, C12P 21/02		
Applicant KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet. <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 03 October 2003 (03.10.2003)	Date of completion of this report 07 April 2004 (07.04.2004)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

JP2003/012734

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

JP03/12734

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-48	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-48	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-48	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**Document 1**

Kuroiwa Y, et al., Efficient modification of a human chromosome by telomere-directed truncation in high homologous recombination-proficient chicken DT40 cells. Nucleic Acids Res. July 15, 1998, Vol. 26, No. 14, p. 3447-3448.

Document 2

Kuroiwa Y, et al., Manipulation of human minichromosomes to carry greater than megabase-sized chromosome inserts. Nat Biotechnol. 2000. Oct, Vol. 18, No. 10, p. 1086-1090.

Document 3

Kuroiwa Y, et al., Cloned transchromosomic calves producing human immunoglobulin. Nat Biotechnol. 2002 Sep, Vol.20, No. 9, p. 889-894.

Document 4

Mills W, et al., Generation of an approximately 2.4 Mb human X centromere-based minichromosome by targeted telomere-associated chromosome fragmentation in DT40. Hum Mol Genet. 1999 May, Vol. 8, No. 5, p. 751-761.

Document 5

Larin Z, et al., Advances in human artificial chromosome technology. Trends Genet. 2002 Jun, Vol. 18, No. 6, p. 313-319.

(Continued)

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of Box V.2.:

Document 6

Ikeno M, et al., Generation of human artificial chromosomes expressing naturally controlled guanosine triphosphate cyclohydrolase I gene. *Genes Cells*. October 2, 2002 (online publication date: September 27, 2002), Vol. 7, No. 10, p. 1021-1032.

Document 7

Grimes BR, et al., Alpha-satellite DNA and vector composition influence rates of human artificial chromosome formation. *Mol Ther*. 2002 Jun, Vol. 5, No. 6, p. 798-805.

Document 8

Masumoto, H. et al., Centromere Kinetochore no Kino Kozo: Hito Jinko Senshokutai o Mochiita Kino Kaiseki. *Protein, Nucleic Acid, and Enzyme*, 1999, Vol. 44, No. 2, p. 1665-1673

•Claims 1-48

Document 1 describes a method of telomere truncation in chicken DT40 cells, and it states that the DT40 cells have high homologous recombination proficiency.

Document 2 describes the preparation of a human artificial chromosome (HAC) that contains a desired chromosome region by performing chromosome translocation with a Cre/loxP recombination system after the chromosome has been fragmented by telomere truncation in DT40 cells. It also states that at that time the loxP sequence is inserted into the RNR2 locus of the SC20 short arm of human chromosome 14 from which the distal side of the long arm has been deleted beforehand, and that part is used as a so-called cloning site. Moreover, Figure 1, etc., show that as a consequence the distal part of the short arm of human chromosome 14 is also deleted by chromosome translocation using the Cre/loxP recombination system. Document 2 also states that even when the constructed HAC is transferred into mouse ES cells by the micronucleus fusion technique (MMCT), it is very stable and enables creation of a chimeric mouse.

Document 3 describes the preparation of a cow that expresses human antibodies by using a method similar to that of document 2. Moreover, Figure 2, etc., also state that the IgH gene from SC20 is contained in the constructed HAC.

Document 4 concerns the human X chromosome, and Figure 1, etc., describe the fragmentation and modification of that X chromosome at a desired site by telomere truncation in DT40 cells. Moreover, it states that at least a centromere, a replication origin, and two telomeres are essential for an mammalian artificial chromosome (MAC).

(Continued)

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of Box V.2.:

Here it can be said that, as described in documents 5 and 6, that the preparation of an HAC vector that contains a relatively large gene region was a well-known problem to persons skilled in the art before the priority date of the present application. Therefore, persons skilled in the art can easily conceive of using the HAC construction method described in documents 2 and 3 and constructing an HAC containing foreign DNA that encodes various proteins. Moreover, at that time because it is natural to delete undesirable genes that are present on the original chromosome, persons skilled in the art can apply the method described in document 4 and delete the IgH gene segment of SC20 described in document 3 as needed.

Moreover, documents 7 and 8 describe the construction of an HAC utilizing the so-called alphoid sequence, which is a part of a centromere of human chromosome 21, and they state that it is very stable in transformed cells. When we consider that the decoding of human chromosome 21 had been completed before the priority date of this application, and it was possible to refer to this sequence data, etc., before the priority date of this application, persons skilled in the art can easily conceive of constructing an HAC using a centromere, etc., of human chromosome 21 in place of SC20 of human chromosome 14 described in documents 5 and 6.

In addition, persons skilled in the art can decide the position to be deleted on the chromosome and select the foreign DNA to be inserted in the constructed HAC as needed.

Moreover, when we consider the fact that the distal sides of both the short arm and the long arm of the chromosome are easily altered by transposition, and especially the description in documents 2 and 3, this examination finds that adopting the constitution of the invention described in the above claims provides no outstanding effect that cannot be predicted by persons skilled in the art.

Therefore, this examination finds that persons skilled in the art can easily create the inventions described in the above claims based on the descriptions in documents 1-8, and therefore these claims lack an inventive step.

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 22 APR 2004

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 PH-1899-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO3/12734	国際出願日 (日.月.年) 03.10.2003	優先日 (日.月.年) 04.10.2002
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ¹ C12N15/09, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/10, C12P21/02		
出願人 (氏名又は名称) 麒麟麦酒株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

I ☒ 国際予備審査報告の基礎II ☐ 優先権III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成IV ☐ 発明の単一性の欠如V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明VI ☐ ある種の引用文献VII ☐ 国際出願の不備VIII ☐ 国際出願に対する意見国際予備審査の請求書を受理した日
03.10.2003国際予備審査報告を作成した日
07.04.2004

名称及びあて先
日本国特許庁 (IPEA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

4B

9358

小基 道明

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列と磁気ディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-48	有
	請求の範囲		無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-48	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-48	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1

Kuroiwa Y, et al., Efficient modification of a human chromosome by telomere-directed truncation in high homologous recombination-proficient chicken DT40 cells. Nucleic Acids Res. 1998.07.15, vol.26, no.14, p.3447-3448.

文献2

Kuroiwa Y, et al., Manipulation of human minichromosomes to carry greater than megabase-sized chromosome inserts. Nat Biotechnol. 2000. Oct, vol.18, no.10, p.1086-1090.

文献3

Kuroiwa Y, et al., Cloned transchromosomic calves producing human immunoglobulin. Nat Biotechnol. 2002 Sep, vol.20, no.9, p.889-894.

文献4

Mills W, et al., Generation of an approximately 2.4 Mb human X centromere-based minichromosome by targeted telomere-associated chromosome fragmentation in DT40. Hum Mol Genet. 1999 May, vol.8, no.5, p.751-761.

文献5

Larin Z, et al., Advances in human artificial chromosome technology. Trends Genet. 2002 Jun, vol.18, no.6, p.313-319.

(補充欄に続く)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V.2. 欄の続き

文献 6

Ikeno M, et al., Generation of human artificial chromosomes expressing naturally controlled guanosine triphosphate cyclohydrolase I gene. Genes Cells. 2002.10.02 (online publication date: 2002.09.27), vol. 7, no. 10, p. 1021-1032.

文献 7

Grimes BR, et al., Alpha-satellite DNA and vector composition influence rates of human artificial chromosome formation. Mol Ther. 2002 Jun, vol. 5, no. 6, p. 798-805.

文献 8

舩本寛他, セントロメア・キネトコアの機能構造
ヒト人工染色体を用いた機能解析.
蛋白質・核酸・酵素. 1999, vol. 44, no. 2, p. 1665-1673

・請求の範囲 1-48

文献 1 には、ニフトリ DT40 細胞中でのテロメア・トランケーションの方法が記載され、また、該 DT40 細胞は相同組換え効率が高い細胞であることが記載されている。

文献 2 には、該 DT40 細胞中でのテロメア・トランケーションによる染色体の断片化後、Cre/loxP 組換え系による染色体転座を行い、所望の染色体領域を含むヒト人工染色体 (HAC) を調製したことが記載されている。その際に、ヒト 14 番染色体由来で長腕遠位側が予め削除されている SC20 短腕側の RNR2 遺伝子座に loxP 配列を導入し、その部位をいわゆるクローニングサイトとして用いたことが記載されている。また、Cre/loxP 組換え系による染色体転座により、結果として、ヒト 14 番染色体由来の短腕の遠位部分も削除されたことが、図 1 等に記載されている。さらに構築された HAC を微小核融合法 (MMCT) によりマウス ES 細胞に移入しても安定性が高く、そこからキメラマウスを作製し得たことが記載されている。

文献 3 には、文献 2 と同様の手法を用いて、ヒト抗体を発現するウシを作成したことが記載されている。また、構築された HAC には、SC20 に由来する IgH の遺伝子が含まれていることが図 2 等に記載されている。

文献 4 には、ヒト X 染色体に対してではあるが、DT40 細胞中でのテロメア・トランケーションにより、該 X 染色体を所望の位置で切断して改変したことが、図 1 等に記載されている。また、哺乳動物人工染色体 (MAC) には、少なくともセントロメア、複製起点、及び、2 つのテロメアが必須であることが記載されている。

(次の補充欄に続く)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V.2. 欄の続き

ここで、文献5及び6にも記載されるように、比較的大きな遺伝子領域を含むHACベクターを調製することは本願優先日前から当業者に周知の課題であったといえるから、文献2及び3に記載のHAC構築方法を応用し、様々なタンパク質をコードする外来DNAを含むHACを構築することは、当業者が容易に想到し得ることである。また、その際に、元の染色体上に存在する所望しない遺伝子を削除するのは当然のことであるから、文献4に記載の手法を応用して、文献3に記載されているSC20のIGH遺伝子部分を削除することも、当業者が必要に応じて適宜なし得たことである。

また、文献7及び8には、ヒト21番染色体由来のセントロメアの一部である、いわゆるアルフォイド配列を利用したHACを構築したこと、及び、該HACの形質転換細胞中での安定性が高いことが記載されているから、文献5及び6に記載されたヒト14番染色体由来のSC20に代えて、ヒト21番染色体由来のセントロメア等を利用したHACを構築することも、ヒト21番染色体の解読が本願優先日前に終了しており、その配列情報等の参照も本願優先日前に可能であったことを考慮すると、当業者が容易に想到し得ることである。

さらに、染色体上で削除される位置を決定すること、構築されるHACに導入する外来DNAを選択すること等は、当業者が必要に応じて適宜なし得たことである。

そして、染色体の短腕、長腕とも、その遠位側は転座による染色体の変質が起こりやすいこと、並びに、特に文献2及び3の記載を考慮すれば、上記請求の範囲に記載された発明の構成を採ることによって、当業者が予測できないほどの顕著な効果が奏せられたとまではいえない。

したがって、上記請求の範囲に記載された発明は、文献1-8の記載に基づいて、当業者が容易になし得たものと認められるから、進歩性がない。